

# Request Form for Translation

Translation Branch  
The world of foreign prior art to you.  
Translations

U. S. Serial No. : 09/508635

Requester's Name: DAVID LUKYON

Phone No. : 308-3213

Fax No. : 9805

Office Location: 1653

Art Unit/Org. : KISLIVK

Group Director: NO

Is this for Board of Patent Appeals? NO

Date of Request: 10/15/02

Date Needed By: prefer 2-3 weeks, if possible

(Please do not write ASAP-indicate a specific date)

## PTO 2003-204

S.T.I.C. Translations Branch

Phone: 308-0881  
Fax: 308-0989  
Location: Crystal Plaza 3/4  
Room 2C01

SPE Signature Required for RUSH:

### Document Identification (Select One):

**\*\* (Note: Please attach a complete, legible copy of the document to be translated to this form)\*\***

1. ☒ Patent

Document No. JP 3-264525

Language JAPANESE

Country Code JP

Publication Date 11-25-91

No. of Pages \_\_\_\_\_ (filled by STIC)

2. ☐ Article

Author \_\_\_\_\_

Language \_\_\_\_\_

Country \_\_\_\_\_

3. ☐ Other

Type of Document \_\_\_\_\_

Country \_\_\_\_\_

Language \_\_\_\_\_

### Document Delivery (Select Preference):

☐ Delivery to Exmr. Office/Mailbox Date: \_\_\_\_\_ (STIC Only)

☐ Call for Pick-up Date: \_\_\_\_\_ (STIC Only)

To assist us in providing the most cost effective service, please answer these questions:

Will you accept an English Language Equivalent?

yes (Yes/No)

Will you accept an English abstract?

NO (Yes/No)

Would you like a consultation with a translator to review the document prior to having a complete written translation?

NO (Yes/No)

Check here if Machine Translation is not acceptable:

(It is the default for Japanese Patents, '93 and onwards with avg. 5 day turnaround after receipt)

### STIC USE ONLY

#### Copy/Search

Processor: \_\_\_\_\_

Date assigned: \_\_\_\_\_

Date filled: \_\_\_\_\_

Equivalent found: \_\_\_\_\_ (Yes/No)

Doc. No.: \_\_\_\_\_

Country: \_\_\_\_\_

Remarks: \_\_\_\_\_

#### Translation

Date logged in: \_\_\_\_\_

PTO estimated words: \_\_\_\_\_

Number of pages: \_\_\_\_\_

In-House Translation Available: \_\_\_\_\_

In-House: \_\_\_\_\_

Translator: \_\_\_\_\_

Assigned: \_\_\_\_\_

Returned: \_\_\_\_\_

Contractor: \_\_\_\_\_

Name: \_\_\_\_\_

Priority: \_\_\_\_\_

Sent: \_\_\_\_\_

Returned: \_\_\_\_\_

PTO 03-204

Japanese Kokai Patent  
Application No. Hei 3[1991]-264525

AMINO ACID INFUSION SOLUTION

Kiyoshi Mukai et. al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE  
WASHINGTON, D.C. OCTOBER 2002  
TRANSLATED BY THE RALPH MCELROY TRANSLATION COMPANY

JAPANESE PATENT OFFICE (JP)  
PATENT JOURNAL (A)  
KOKAI PATENT APPLICATION NO. HEI 3[1991]-264525

Int. Cl. <sup>5</sup> :	A 61 K 31/195
Sequence Nos. for Office Use:	6971-4C
Filing No.:	Hei 2[1990]-64606
Filing Date:	March 14, 1990
Publication Date:	November 25, 1991
No. of Claims:	1 (Total of 8 pages)
Examination Request:	Not requested

AMINO ACID INFUSION SOLUTION

[Aminosan yueki]

Applicant: Otsuka Pharmaceutical  
Factory, Inc.

Inventors: Kiyoshi Mukai et al.

[There are no amendments to this patent.]

Claim

/1\*

An amino acid infusion solution with the composition shown below containing free amino acid and glutamine dipeptide, characterized by the fact that the glutamine dipeptide is at least one type selected among the group consisting of L-alanyl-L-glutamine, L-glutamyl-L-alanine, glycyl-L-glutamine, and L-glutamylglycine, the amount of the glutamine on a free basis is 10-50 w/w% of the total amount of the amino acid, and furthermore, the total amount of the branched-chain amino acid and the glutamine on a free basis accounts for 30-70 w/w%.

---

\* [Numbers in the right margin represent original pagination.]

①	②
③ロイシン	1 000 ~ 2 000
イソロイシン	500 ~ 1 600
バリン	500 ~ 1 600
リジン	800 ~ 1 600
スレオニン	400 ~ 700
トリプトファン	100 ~ 300
メチオニン	300 ~ 800
フェニルアラニン	600 ~ 1 000
アルギニン	500 ~ 2 500
ヒスチジン	200 ~ 800
アラニン	0 ~ 2 000
グリシン	0 ~ 1 000
プロリン	0 ~ 1 000
セリン	0 ~ 500
システイン	0 ~ 200
チロシン	0 ~ 200
アスパラギン酸	0 ~ 300
グルタミン酸	0 ~ 300
γ-アミノ酪氨酸	1 000 ~ 2 000

Key:	1	L-Amino acid and dipeptide
	2	Composition range (mg/dL)
	3	Leucine
		Isoleucine
		Valine
		Lysine
		Threonine
		Tryptophan
		Methionine
		Phenylalanine
		Arginine
		Histidine
		Alanine
		Glycine
		Proline
		Serine
		Cysteine
		Tyrosine
		Aspartic acid
		Glutamic acid
		Glutamine dipeptide

(Where the total amount of the amino acid means the sum of glutamine dipeptide and free amino acid.)

#### Detailed explanation of the invention

/2

##### Industrial application filed

The present invention pertains to an amino acid infusion solution, and the invention further pertains to an amino acid infusion solution containing a glutamine dipeptide.

#### Prior art and problems

An intravenous amino acid infusion solution is widely used for the purpose of providing supplemental nutrients when oral administration is difficult or impossible despite the need for amino acids or proteins when a patient is sick or before or after surgery. In recent years, increased demand of glutamine in the enteron under starvation or stress due to surgical intrusion, etc., and the need for administration of glutamine have been pointed out in order to maintain the function of the enteron and smooth amino acid metabolism. In other words, according to Askanazi, et al. and Souba, et al., the demand for glutamine in the enteron increases among moderate to highly affected patients and the glutamine concentration in muscles is significantly reduced (Annals of Surgery, Vol. 192, p.78, 1980, Archives of Surgery Vol 120, p.66, 1985).

Under the above-mentioned circumstances, glutamine is supplied as a result of decomposition of muscle tissue, which leads to general glutamine deficiency, also, intestinal cilia contraction occurs and the function of the intestine is reduced unless glutamine is supplied externally.

Meanwhile, glutamine occupies approximately 60% of the total amino acid of skeletal muscles and liver, but is a nonessential amino acid, and is unstable in solution; thus, it is not included in conventional amino acid infusion solutions. When a conventional amino acid infusion solution used as a high-calorie infusion solution (TPN) that does not include the above-mentioned glutamine or derivative thereof is administered to a moderately to highly affected patient, the branched-chain amino acid (BCAA, leucine + isoleucine + valine) included in the aforementioned infusion solution synthesizes glutamine and responds to the increase in glutamine demand, but the effect achieved is insufficient and intestinal contraction is inevitable, and furthermore, control of muscle protein catabolism based on the above-mentioned BCAA deficiency becomes inadequate. As described above, the conventional amino acid infusion solution for TPN poses a problem from the standpoint of nutrient control of the patient. Furthermore, an infusion solution with a higher nutrient-higher calorie content is required for highly affected patients compared to a healthy individual, but in general, kidney function is reduced; thus, when a conventional amino acid infusion solution is administered, fluid increase is

likely to occur and the kidney function is likely to be further reduced. In order to eliminate the above-mentioned problem, development of an amino acid infusion solution with a high concentration is desired.

Furthermore, treatment of catabolism malfunction based on addition of glutamine to an amino acid infusion solution is disclosed in Japanese Tokuhyo Patent Application No. Sho 63[1988]-501214 by Wilmore, et al., but the method is not practical since an unstable glutamine is used. It is disclosed that an amino acid infusion solution containing L-alanyl-L-glutamine or glycyl-L-alanyl-L-glutamine can meet an increased demand for glutamine at the time of progression of muscle protein catabolism in European Patent Application No. 87750 by Furst, et al., but the amount of the glutamine derivative added is insignificant, and as a consequence, the result achieved is insignificant as well, and furthermore, the total amino acid (TAA) is insufficient in the above-mentioned infusion solution to be used as a high nutrient-high calorie infusion solution for a highly affected patient.

Furthermore, it is reported that accumulation of fats and glycogen occurs due to amino acid imbalance when a high proportion of glycyl-L-glutamine is added to an existing amino acid infusion solution for TPN ("12% Isopol" [transliteration], product of Japan Pharmaceutical Factory Co., (Ltd.)), mucous membrane contraction in the intestine can be reduced (Yoshimura, et al., Surgery and Metabolism and Nutrient, 23 (4), 195(1989)).

The purpose of the present invention is to produce a well-balanced amino acid infusion solution with a high concentration that corrects an irregular internal amino acid pattern of the patient with a variety of afflictions, maintains and improves intestinal function, prevents catabolism of the muscle protein, promotes synthesis of body protein and with an absence of load on the hepatorenal system.

#### Means to solve the problems

/3

The present invention aims to eliminate the above-mentioned problems, and the invention was accomplished as a result of a study based on glutamine and BCAA in relation to internal amino acid behavior under serious afflictions and the inability to take in nutrition.

In other words, the present invention is an amino acid infusion solution characterized by the fact that the glutamine dipeptide is at least one type selected from the group consisting of L-alanyl-L-glutamine, L-glutamyl-L-alanine, glycyl-L-glutamine, and L-glutamyl-glycine, the amount of the glutamine (Gln) on a free basis amounts to 10 to 50 w/w% of the TAA amount, (TAA amount indicates the total amount of glutamine dipeptide and free amino acid) and furthermore, the total amount of the BCAA and the glutamine on a free basis accounts for 30-70 w/w% of the TAA in an amount amino acid infusion solution with the composition shown below containing free amino acid and glutamine dipeptide.

①	②
③	組成範囲 (mg/dL)
ロイシン	1000~2000
イソロイシン	500~1600
バリン	500~1600
リジン	800~1600
スレオニン	400~700
トリプトファン	100~300
メチオニン	300~800
フェニルアラニン	600~1000
アルギニン	500~2500
ヒスチジン	200~800
アラニン	0~2000
グリシン	0~1000
プロリン	0~1000
セリン	0~500
システイン	0~200
チロシン	0~200
アスパラギン酸	0~300
グルタミン酸	0~300
グルタミン酸ジペプチド	1000~20000

- Key: 1 L-Amino acid and dipeptide  
 2 Composition range (mg/dL)  
 3 Leucine  
 Isoleucine  
 Valine  
 Lysine  
 Threonine  
 Tryptophan  
 Methionine  
 Phenylalanine  
 Arginine  
 Histidine  
 Alanine  
 Glycine  
 Proline  
 Serine  
 Cysteine  
 Tyrosine  
 Aspartic acid  
 Glutamic acid  
 Glutamine dipeptide

In the amino acid infusion solution of the present invention, a part or all of the cysteine may be replaced with cystine and/or methionine, and a part or all of the tyrosine may be replaced with alanine.

The amino acid infusion solution of the present invention can be used effectively as a TPN infusion solution for average to seriously afflicted patients under a variety of conditions such as surgery, sepsis, organic diseases, cancers and fevers, and needless to say, improvement of nitrogen intake and outake, control of catabolism of the muscle protein, promotion of body protein, etc., can be expected, and an excellent effect can be achieved for maintenance of muscles, various organs, in particular, intestinal functions, and furthermore, side effects such as fatty liver and high ammoniacal blood are absent.

For glutamine dipeptide in the present invention, at least one type selected from the group consisting of L-alanyl-L-glutamine, L-glutamyl-L-alanine, glycyl-L-glutamine and L-glutamylglycine can be used. The solubility is high in the above-mentioned dipeptides, decomposition does not occur at the time of heat sterilization, and the utilization factor in the body is high as well. Among those listed above, the dipeptide of L-alanine exhibits a high metabolic rate and is well utilized, and furthermore, the pool of the L-alanine is high and exhibits an important function as a nitrogen carrier; thus, it is further desirable. Upon administration of the aforementioned glutamine dipeptide, the glutamine concentration in the body is increased, meets the demand of glutamine of muscles and organs, in particular, the intestine, and exhibits excellent effect on maintenance of the intestine function.

In the amino acid infusion solution of the present invention, the amount of the glutamine on a free basis amounts to 10-50 w/w%, preferably, 20-40 w/w%. When the above-mentioned amount is below 10 w/w%, it is not possible to meet the increased glutamine demand, and an adequate target effect of the present invention cannot be achieved; on the other hand, when the amount exceeds 50 w/w%, [highly ammoniacal blood] is likely to appear and nitrogen intake and outake becomes inadequate.

The formulation of the other amino acid components with the exception of the above-mentioned glutamine dipeptide is the amino acid formulation designed for patients with serious afflictions, namely, an increased BCAA ratio and slightly reduced aromatic amino acid content, and the composition ratio with the above-mentioned glutamine dipeptide is as shown in the table above. It is desirable when the amino acid infusion solution of the present invention has the amino acid composition shown below.



① L-アミノ酸及び二ペプチド	② 好適組成範囲 (mg/dL)
③ ロイシン	1100~1500
イソロイシン	500~1500
バリン	500~1500
リジン	800~1500
スレオニン	450~700
トリプトファン	150~250
メチオニン	350~800
フェニルアラニン	600~800
アルギニン	600~2200
ヒスチジン	250~700
アラニン	0~2000
グリシン	0~1000
プロリン	0~600
セリン	0~400
システイン	0~150
チロシン	0~150
アスパラギン酸	0~150
グルタミン酸	0~200
グルタミン二ペプチド	3000~15000

- Key: 1 L-Amino acid and dipeptide  
 2 Desirable composition range (mg/dL)  
 3 Leucine  
 Isoleucine  
 Valine  
 Lysine  
 Threonine  
 Tryptophan  
 Methionine  
 Phenylalanine  
 Arginine  
 Histidine  
 Alanine  
 Glycine  
 Proline  
 Serine  
 Cysteine  
 Tyrosine  
 Aspartic acid  
 Glutamic acid  
 Glutamine dipeptide

Furthermore, the feature of the amino acid infusion solution of the present invention is the BCAA concentration that controls the muscle protein catabolism of patients with heavy afflictions and promotes synthesis of body protein is set high as described above, and at the same time, a high mixing ratio of 10-50 w/w%, preferably, 20-40 w/w% of Gln for the amount of TAA is used, and based on this, the sum of BCAA and Gln is set in the range of 30-70 w/w%, preferably, 40-60 w/w%, of the amount of TAA.

Furthermore, upon application of an amino acid infusion solution for an afflicted patient that requires a high nutrient-high calorie protein, it is necessary to reduce the dosage of the solution content in the aforementioned infusion solution as much as possible and to reduce the load on the kidneys; thus, it is desirable when the TAA concentration of the infusion solution of the present invention is adjusted to the range of approximately 8-30 g/dL, preferably, 10-25 g/dL.

Production of the amino acid infusion solution of the present invention can be achieved according to the manufacturing methods of conventional amino acid infusion solutions. It is desirable when a crystalline amino acid is used as the raw material amino acid, and in general, it is used in the form of a free amino acid, but it is not essential to use free amino acid, and standard water-soluble salts, namely, those in the form of pharmaceutically acceptable salts, for example, metal salts such as sodium salts or potassium salts, mineral salts such as hydrochlorides and sulfates, organic acid salts such as acetates, lactates and malates can be mentioned.

The amino acid infusion solution of the present invention can be produced upon mixing the specific amino acid and glutamine dipeptide with distilled water for injection as usual to dissolve it, and a variety of additives, for example, stabilizers such as sodium hydrogen sulfite, pH modifiers such as hydrochloric acid, acetic acid, lactic acid, malic acid, citric acid and sodium hydroxide may be added, as needed.

The infusion solution of the present invention is produced by filtration of the solution produced above through a 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter, injecting the filtrate into a vial, the space is purged with nitrogen gas and sealed, then, a heat-treatment is provided at approximately 100-121°C for approximately 20-60 minutes and sterilization is performed to produce the final product.

The amino acid infusion solution of the present invention produced as described above can be administrated by itself into the vein of a medium to heavily afflicted patient suffering from surgery, sepsis, organic diseases, cancer, fever, etc., and it is further desirable when administered as TPN in combination with dextroglucose, fats, electrolytes, vitamins, etc. The dosage is appropriately determined according to the condition of the patient and the treatment effect, etc. In general, a range of approximately 100-1500 mL per person per day is suitable.

### Effect of the invention

The amino acid infusion solution of the present invention remains stable in solution, and includes a high proportion of glutamine dipeptide and BCAA easily utilized in the afflicted body, and furthermore, the function of the intestine which is likely to be reduced as a result of the affliction can be maintained and improved based on an increased TAA concentration, and furthermore, it prevents muscle protein catabolism and synthesis of body protein, and high nutrient-high calorie infusion solution is made possible in a small amount, and furthermore, an excessive load is not applied to the kidneys.

### Application examples

In order to explain the present invention in further detail, application examples and pharmaceutical test examples are shown below.

#### Application example 1

Amino acids with the formulation shown in Table 1 and L-alanyl-L-glutamine were dissolved in distilled water used for injection, 30 mg/dL sodium hydrogen sulfite were added as a stabilizer, and an adjustment was made with acetic acid to form a pH of 7.0. Subsequently, filtration was performed through a 0.45- $\mu$ m membrane filter, the filtrate was injected into a vial, nitrogen gas purging was performed, and the vial sealed; then, high-pressure steam sterilization was performed at 105°C for 40 min.

Table 1

①	②
③	④
ロイシン	1400
イソロイシン	800
バリン	800
リジン酢酸塩	1481
(リジンとして)	1050)
スレオニン	570
トリプトファン	200
メチオニン	390
フェニルアラニン	700
アルギニン	1050
ヒスチジン	500
グリシン	101
ル-アラニル-L-グルタミン	7439
(グルタミンとして)	5000)
(アラニンとして)	3051)
TAA	15.0 v/v %
Glut / TAA	33.3 v/v %
(BCAA + Glut) / TAA	53.3 v/v %

- Key: 1 L-Amino acid and dipeptide  
 2 Mixing ratio (mg/dL)  
 3 Leucine  
 Isoleucine  
 Valine  
 Lysine acetate  
 (As lysine  
 Threonine  
 Tryptophan  
 Methionine  
 Phenylalanine  
 Arginine  
 Histidine  
 Glycine  
 L-Alanyl-L-glutamine  
 (As glutamine  
 (As alanine

## Application Example 2

As in the case of Application example 1, production of the amino acid infusion solution shown in Table 2 below was performed.

Table 2

①	②	③
①	②	③
③	ロイシン	1 4 0 0
	イソロイシン	8 0 0
	バリン	8 0 0
	リジン酢酸塩	1 4 8 1
	(リジンとして)	1 0 5 0
	スレオニン	5 7 0
	トリプトファン	2 0 0
	メチオニン	3 9 0
	フェニルアラニン	7 0 0
	アルギニン	1 0 5 0
	ヒスチジン	5 0 0
	チロシン	1 8
	システイン	3 5
	プロリン	1 7 4
	L-アラニル-L-グルタミン	5 7 2 2
	グリシル-L-グルタミン	1 5 9 7
	(グルタミンとして)	5 0 0 0
	(アラニンとして)	2 3 4 7
	(グリシンとして)	5 9 0
	TAA	1 5 . 0 v/v %
	Glx / TAA	3 3 . 3 v/v %
	(BCAA + Glx) / TAA	5 3 . 3 v/v %

Key: 1 L-amino acid and dipeptide  
 2 Mixing ratio (mg/dl)  
 3 Leucine  
 Isoleucine  
 Valine  
 Lysine acetate  
 (As lysine  
 Threonine  
 Tryptophan  
 Methionine  
 Phenylalanine

Arginine  
 Histidine  
 Tyrosine  
 Cysteine  
 Proline  
 L-Alanyl-L-glutamine  
 Glycyl-L-glutamine  
 (As Glutamine  
 (As Alanine  
 (As Glycine

### Application Example 3

As in the case of Application example 1, production of amino acid infusion solution shown in Table III below was performed.

/6

Table 3

① L-アミノ酸及びジペプチド	② 配合量 (mg/100ml)
③ ロイシン	1400
イソロイシン	800
バリン	800
リジン酢酸塩	1481
(リジンとして)	1050)
スレオニン	570
トリプトファン	200
メチオニン	390
フェニルアラニン	700
アルギニン	1050
ヒスチジン	500
プロリン	376
セリン	225
システイン	100
チロシン	50
アスパラギン酸	100
L-アロニル-L-グルタミン	6689
(グルタミンとして)	4500)
(アラニンとして)	2743)
TAA	15.0 v/v %
Glut / TAA	30.0 v/v %
(BCAA + Glut) / TAA	50.0 v/v %

Key: 1 L-Amino acid and dipeptide

- 2     Mixing ratio (mg/dL)
- 3     Leucine
- Isoleucine
- Valine
- Lysine acetate
- (As lysine
- Threonine
- Tryptophan
- Methionine
- Phenylalanine
- Arginine
- Histidine
- Proline
- Serine
- Cysteine
- Tyrosine
- Aspartic acid
- L-Alanyl-L-glutamine
- (As glutamine
- (As alanine

#### Application Example 4

As in the case of Application Example 1, production of amino acid infusion solution shown in Table 4 below was performed.

Table 4

①	②	③
①	②	③
③ロイシン	1 2 3 2	
イソロイシン	5 5 0	
バリン	6 1 0	
リジン酢酸塩	2 1 0 3	
リジンとして	1 4 9 1)	
スレオニン	5 4 0	
トリプトファン	1 8 0	
メチオニン	7 1 0	
フェニルアラニン	8 7 0	
アルギニン	6 6 2	
ヒスチジン	2 9 6	
グリシン	4 2 0	
L-アラニル-L-グルタミン	7 4 3 9	
(グルタミンとして	5 0 0 5)	
(アラニンとして	3 0 5 1)	
T A A	1 5 . 0 v/v %	
Glut / T A A	3 3 . 4 v/v %	
(B C A A + Glut) / T A A	4 9 . 3 v/v %	

- Key: 1 L-Amino acid and dipeptide  
 2 Mixing ratio (mg/dL)  
 3 Leucine  
 Isoleucine  
 Valine  
 Lysine acetate  
 (As lysine  
 Threonine  
 Tryptophan  
 Methionine  
 Phenylalanine  
 Arginine  
 Histidine  
 Glycine  
 L-Alanyl-L-glutamine  
 (As glutamine  
 (As alanine



## Application Example 5

As in the case of Application example 1, production of amino acid infusion solution shown in Table 5 below was performed.

Table 5

①	②	③
①	②	③
③	ロイシン	1200
	イソロイシン	1000
	バリン	1000
	リジン酢酸塩	1975
	(リジンとして)	1400)
	スレオニン	600
	トリプトファン	160
	メチオニン	500
	フェニルアラニン	800
	アルギニン	1500
	ヒスチジン	700
	グリシン	690
	プロリン	550
	セリン	200
	システイン	100
	チロシン	50
	アスパラギン酸	150
	レ-グルタミン-L-アラニン	6400
	(グルタミンとして)	4306)
	(アラニンとして)	2625)
	TAA	17.0 v/v %
	Glut / TAA	25.3 v/v %
	(BCAA + Glut) / TAA	44.2 v/v %

Key: 1 L-Amino acid and dipeptide  
 2 Mixing ratio (mg/dL)  
 3 Leucine  
 Isoleucine  
 Valine  
 Lysine acetate  
 (As lysine  
 Threonine  
 Tryptophan  
 Methionine  
 Phenylalanine  
 Arginine

Histidine  
 Glycine  
 Proline  
 Serine  
 Cysteine  
 Tyrosine  
 Aspartic acid  
 L-Glutamyl-L-alanine  
 (As glutamine  
 (As alanine

/7

### Application Example 6

As in the case of Application example 1, production of amino acid infusion solution shown in Table 6 below was performed.

Table 6

① L-アミノ酸及びライブラリ	② 配合量 (mg/l)
③ ロイシン	1300
イソロイシン	1000
バリン	1000
リジン酢酸塩	1975
(リジンとして)	1400
スレオニン	600
トリプトファン	200
メチオニン	500
フェニルアラニン	800
アルギニン	1500
ヒスチジン	700
プロリン	400
セリン	200
システイン	100
チロシン	50
アスパラギン酸	150
L-グルタミン-L-アラニン	6600
L-グルタミン-L-グリシン	2500
(グルタミンとして)	6239
(アラニンとして)	2707
(グリシンとして)	924
TAA	19.0 v/v %
Glut / TAA	32.8 v/v %
(BCAA + Glut) / TAA	50.2 v/v %

Key:	1	L-Amino acid and dipeptide
	2	Mixing ratio (mg/dL)
	3	Leucine
		Isoleucine
		Valine
		Lysine acetate
		(As lysine
		Threonine
		Tryptophan
		Methionine
		Phenylalanine
		Arginine
		Histidine
		Proline
		Serine
		Cysteine
		Tyrosine
		Aspartic acid
		L-Glutamyl-L-alanine
		L-Glutamylglycine
		(As glutamine
		(As alanine
		(As glycine

#### Application Example 7

As in the case of Application example 1, production of amino acid infusion solution shown in Table 7 below was performed.

Table 7

①	レ-アミノ酸及びライナリド	配合量 (g/g)	②
②	ロイシン	1400	
	イソロイシン	1200	
	バリン	1200	
	リジン酢酸塩	1692	
	(リジンとして	1200)	
	スレオニン	500	
	トリプトファン	250	
	メチオニン	400	
	フェニルアラニン	500	
	アルギニン	1200	
	ヒスチジン	600	
	プロリン	600	
	セリン	200	
	システイン	100	
	チロシン	50	
	アスパラギン酸	150	
	L-アラニール-L-グルタミン	7450	
	γ-グルテミル-L-グルタミン	3000	
	(グルタミンとして	7171)	
	(アラニンとして	3055)	
	[グリシンとして	1108)	
	TAA	20.0 v/v %	
	Gla / TAA	35.9 v/v %	
	(BCAA + Gla) / TAA	54.9 v/v %	

Key: 1 L-Amino acid and dipeptide  
2 Mixing ratio (mg/dL)  
3 Leucine  
Isoleucine  
Valine  
Lysine acetate  
(As lysine  
Threonine  
Tryptophan  
Methionine  
Phenylalanine  
Arginine  
Histidine  
Proline

Serine  
 Cysteine  
 Tyrosine  
 Aspartic acid  
 L-Alanyl-L-glutamine  
 Glycyl-L-glutamine  
 (As glutamine  
 (As alanine  
 (As glycine

#### Pharmaceutical test example

Only 5 g of a 5% casein diet per 1 day alone was fed to 250-g Wister type male rats for 7 days and a low-nutrient test was carried out. Subsequently, cut of approximately 4 cm was formed along the centerline of the abdomen with a sharp knife under Nembutal anesthesia, and the intestine was removed and exposed in air for 30 min to simulate surgery. During the course of the above-mentioned 30 min, a silicone rubber catheter was inserted to the vein at cavopulmonary anastomosis so continuous infusion of the solution can be achieved under a restraint-free condition. The intestine was returned to the abdominal cavity, the abdominal walls were stitched and TPN administration of the amino acid infusion solution of the present invention produced in Application example 3 was immediately done for 7 days at a rate of 2.0 gN/kg/day (present invention).

Meanwhile, for comparison, the equivalent N ratio (2.0 g/kg/day) of N "Amipalene" [transliteration] (product of Otsuka Pharmaceutical Factory Co., (Ltd.)) was administered for other groups (comparison group).

In this case, an equivalent dosage of glucose and fat were administered for both groups and the total calories were adjusted to approximately 286 kcal/kg/day. Furthermore, the required amount of electrolytes and vitamins was administered as well.

Measurement was performed for the weight and the weight of the solution in the intestine of each group of rats (each group of 12 rats) 7 days after starting of the above-mentioned TPN. The amount of urine was measured daily, and the total nitrogen discharge ratio was measured by a trace nitrogen analyzer (Model TN-7, product of Yanagimoto Factory, Inc) and calculation of the nitrogen (amount of nitrogen administered - amount of nitrogen included in urine) was performed. Furthermore, measurement was performed for the weight of the mucous membrane of the intestine, amount of protein, DNA and sucrase activity.

The measurement method was based on the references listed below.

Protein: Lowry et al., J. Biol. Chem., 193, 265(1951)

DNA: Schneider, J. Biol. Chem., 164, 747(1946)

Sucrose activity: Dahlqvist, Anal. Biochem., 22, 99(1968)

The measurement results are shown in Table 8 below.

Table 8

	①	②	③	④
測定項目	比較群	本発明群	有意差判定	
⑤ 体重増加率 (%)	$+8.1 \pm 2.6$	$+14.6 \pm 3.2$	**	
窒素出納 (mg/day)	$+178 \pm 23$	$+183 \pm 29$	**	
空腸湿重量 (mg/cm)	$24.5 \pm 3.2$	$38.4 \pm 3.9$	**	
空腸粘膜の重量 (mg/cm)	$17.4 \pm 0.8$	$21.3 \pm 1.1$	**	
空腸粘膜の蛋白量 (mg/cm)	$1.8 \pm 0.3$	$3.3 \pm 0.3$	**	
空腸粘膜のDNA ( $\mu$ g/cm)	$245 \pm 11$	$288 \pm 19$	**	
空腸粘膜の Sucrase (nmol/cm/min)	$112 \pm 28$	$178 \pm 31$	**	

Key: 1 Measured item  
 2 Comparison group  
 3 Present invention group  
 4 Significance test  
 5 Weight increase (%)  
 Nitrogen (mg/day)  
 Weight of jejunal moisture (mg/cm)  
 Weight of jejunal mucous (mg/cm)  
 Weight of jejunal protein (mg/cm)  
 Jejunal mucous DNA ( $\mu$ g/cm)  
 Jejunal mucous sucrase (nmol/cm/min)

As shown in Table 8, excellent weight gain ratio and nitrogen are observed in comparison to those of the comparison group, and superior nutrient effect was clearly achieved.

Furthermore, a higher weight of jejunal moisture, weight of jejunal mucous, protein, and DNA was achieved in comparison to those of the comparison group, which indicates that contraction of the intestine is controlled upon administration of the L-alanyl-L-glutamine in the amino acid infusion solution of the present invention.

Furthermore, the higher sucrase activity in the group of the present invention indicates that the function of the intestine is improved as a result of administration of L-alanyl-L-glutamine in the infusion solution of the present invention.

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

## ⑫ 公開特許公報(A) 平3-264525

⑮ Int. Cl.<sup>5</sup>  
A 61 K 31/195識別記号  
ABY  
ADD庁内整理番号  
6971-4C

⑬ 公開 平成3年(1991)11月25日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全8頁)

⑭ 発明の名称 アミノ酸輸液

⑯ 特 願 平2-64606

⑰ 出 願 平2(1990)3月14日

⑱ 発 明 者	向 井 淨	徳島県板野郡松茂町広島字丸須1-9
⑱ 発 明 者	桑 波 田 十九男	徳島県鳴門市鳴門町高島字山路3-29
⑱ 発 明 者	青 木 光 夫	徳島県鳴門市鳴門町高島字中島161-4
⑱ 発 明 者	岩 原 良 晴	徳島県鳴門市撫養町立岩字七枚19-1
⑲ 出 願 人	株式会社大塚製薬工場	徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原115
⑳ 代 理 人	弁理士 三 枝 英二	外2名

PTO 2003-204

S.T.I.C. Translations Branch

## 明 細 書

発明の名称 アミノ酸輸液

特許請求の範囲

① 遊離アミノ酸及びグルタミンのジペプチドを含有する下記組成範囲のアミノ酸輸液であって、グルタミンのジペプチドがL-アラニル-L-グルタミン、L-グルタミル-L-アラニン、グリシル-L-グルタミン及びL-グルタミル-グリシンから選ばれる少なくとも一種であり、遊離換算グルタミン量が総アミノ酸量の10～50 w/w % の範囲にあり、且つ分枝鎖アミノ酸と遊離換算グルタミンとの合計量が総アミノ酸量の30～70 w/w % の範囲にあることを特徴とするアミノ酸輸液。

L-アミノ酸及びジペプチド 組 成 範 囲 (mg/dl)

ロイシン	1000～2000
イソロイシン	500～1600
バリン	500～1600

リジン 800～1600

スレオニン 400～700

トリプトファン 100～300

メチオニン 300～800

フェニルアラニン 600～1000

アルギニン 500～2500

ヒスチジン 200～800

アラニン 0～2000

グリシン 0～1000

プロリン 0～1000

セリン 0～500

システイン 0～200

チロシン 0～200

アスパラギン酸 0～300

グルタミン酸 0～300

グルタミンのジペプチド 1000～20000

[但し総アミノ酸量とはグルタミンのジペプチドと遊離アミノ酸との合計量を示す]。

## 発明の詳細な説明

## 産業上の利用分野

本発明はアミノ酸輸液、更に詳しくはグルタミンのジペプチドを含有するアミノ酸輸液に関する。

## 従来技術とその課題

経静脈用アミノ酸輸液は、各種疾患時或は術前術後等において、アミノ酸もしくは蛋白質を摂取する必要があるにもかかわらず之等を経口的に摂取できないか又は困難な場合の栄養補給を目的として広く利用されている。近年、飢餓時、外科的侵襲時等のストレス下では特に腸管でのグルタミン需要が増大し、腸管機能維持やアミノ酸代謝の円滑化のためにグルタミン投与の必要性が指摘されている。即ち、アスカナチら (Askanazi et al) 及びソーバラ (Souba et al) は、中等度以上の侵襲下の患者では、腸管でのグルタミン需要が増大し、筋肉でのグルタミン濃度が著しく低下すると報告している [アナルズ オブ サージェリー

(Annals of Surgery)、192巻、78頁、

1980年；アーカイブス オブ サージェリー (Archives of Surgery)、120巻、66頁、1985年]。

このような状況下では、外部からグルタミンを与えないと、筋肉組織の分解によりグルタミンが補給され、全身的グルタミン不足を生じ、ついには腸内繊毛萎縮を招来し、腸管の機能が低下する。

一方、グルタミンは骨格筋や肝臓の総アミノ酸の約60%を占めるにもかかわらず、非必須アミノ酸であり、しかも水溶液中で不安定であることから、従来のアミノ酸輸液には含有されていない。かかるグルタミン又はその誘導体が添加されていない従来の高カロリー輸液 (TPN) 用アミノ酸輸液は、これを中等度～重度侵襲下患者に投与すると、該輸液中の分岐鎖アミノ酸 (BCAA、ロイシン+イソロイシン+バリン) がグルタミンを合成してグルタミン需要増大に対応するが、尚不

— 3 —

充分であり上記の通り腸管萎縮は避けられず、しかもこの場合、上記BCAA不足による筋蛋白異化の抑制が不充分となる欠点がある。このように、従来のTPN用アミノ酸輸液は患者の栄養管理上で問題がある。また、重度侵襲下患者は正常人よりも高栄養・高カロリーの輸液を必要としているが、一般に腎機能が低下しているため、従来のアミノ酸輸液の適用によれば、水分過剰になりやすく、これが一層の腎機能低下を誘発するおそれがある。この問題を解消するためにも、高濃度のアミノ酸輸液の開発が望まれている。

また、ウィルモアら (Wilmore et al) は、特表昭63-501214号公報でグルタミンをアミノ酸輸液に添加して異化機能障害を治療することを開示しているが、不安定なグルタミンを使用しているために実用的でない。フィルストラ

(Fürst et al) は、ヨーロッパ特許公開公報第87750号において、L-アラニル-L-グル

— 4 —

タミン又はグリシル-L-アラニル-L-グルタミンを添加したアミノ酸輸液が筋蛋白異化亢進時のグルタミン需要増大に対応し得る旨開示しているが、之等のグルタミン誘導体の添加量は少なく、従ってその効果も不充分であり、しかも該輸液は重度侵襲下患者に高栄養・高カロリー輸液として適用するには総アミノ酸 (TAA) 濃度が充分ではなく不適当である。

更に、既存のTPN用アミノ酸輸液 (「12% イスポール」、日本製薬㈱製) に大量のグリシル-L-グルタミンを添加すると、腸管の粘膜萎縮は軽減できるが、アミノ酸インバランスのため肝臓に脂肪やグリコーゲンが蓄積するという不都合の生じることが報告されている [吉村ら、外科と代謝・栄養、23(4)、195(1989)]。

本発明の目的は、各種侵襲下にある患者の不均衡化した体内アミノ酸パターンを是正し、腸管機能の維持・改善を図り、筋蛋白の異化を阻止し、

— 5 —

—146—

— 6 —



体蛋白合成を促進し、肝腎機能に負担をかけない高濃度のバランスのとれたアミノ酸輸液を提供することにある。

#### 課題を解決するための手段

本発明は上記課題を解決するものであり、殊に重度侵襲下や栄養摂取不良状態等での体内アミノ酸動態についてグルタミン及びBCAAを中心として検討を加えた結果完成されたものである。

即ち、本発明は遊離アミノ酸及びグルタミンのジペプチドを含有する下記組成範囲のアミノ酸輸液であって、グルタミンのジペプチドがL-アラニル-L-グルタミン、L-グルタミル-L-アラニン、グリシル-L-グルタミン及びL-グルタミル-グリシンから選ばれる少なくとも一種であり、遊離換算グルタミン(Gln)量がTAA量〔但しTAA量とはグルタミンのジペプチドと遊離アミノ酸との合計量を示す〕の10~50w/w%の範囲にあり且つBCAAとGlnとの合計量が

TAA量の30~70w/w%の範囲にあることを特徴とするアミノ酸輸液に係る。

#### L-アミノ酸及びジペプチド 組成範囲 (mg/dl)

ロイシン	1000~2000
イソロイシン	500~1600
バリン	500~1600
リジン	800~1600
スレオニン	400~700
トリプトファン	100~300
メチオニン	300~800
フェニルアラニン	600~1000
アルギニン	500~2500
ヒスチジン	200~800
アラニン	0~2000
グリシン	0~1000
プロリン	0~1000
セリン	0~500
システイン	0~200

— 7 —

チロシン	0~200
アスパラギン酸	0~300
グルタミン酸	0~300
グルタミンのジペプチド	1000~20000

本発明のアミノ酸輸液においては、システインはその一部又は全部をシスチン及び/又はメチオニンで代替でき、チロシンはその一部又は全部をフェニルアラニンで代替できる。

本発明のアミノ酸輸液は外科侵襲、敗血症、多臓器不全症、癌、熱症等の各種の中等度~重度侵襲下患者にTPN用輸液として有利に適用でき、その適用によって、窒素出納の改善、筋蛋白異化の抑制、体蛋白合成の促進等を計り得ることは勿論のこと、筋肉や諸臓器、特に腸管機能の維持に優れた効果を発揮し得、しかも脂肪肝や高アンモニア血症等の副作用の心配はない。

本発明においてグルタミンのジペプチドとしては、L-アラニル-L-グルタミン、L-グルタ

— 8 —

ミル-L-アラニン、グリシル-L-グルタミン及びL-グルタミル-グリシンから選択される少なくとも一種が用いられる。之等ジペプチドは、溶解度が高く、加熱滅菌時に分解することなく、動物体内での利用率も高い。之等の中でもL-アラニンのジペプチドは、各種侵襲下においても生体での代謝速度が速くよく利用され、しかもL-アラニンはプールが大きく窒素キャリアーとして重要な働きをするため、より好ましい。該グルタミンのジペプチドは、その投与により殊に体内グルタミン濃度を高め、筋肉や諸臓器、特に腸管でのグルタミン需要に対応し、腸管機能の維持に優れた効果を発揮する。

本発明アミノ酸輸液において上記グルタミンのジペプチドは、遊離換算グルタミンとしてTAA量の10~50w/w%、好ましくは20~40w/w%含有される量とされる。これが10w/w%より余りに少ないとグルタミン需要増大に応じら

— 9 —

—147—

— 10 —

れず、本発明所期の十分な効果は得られず、逆に50w/w%を越えて高すぎると高アンモニア血症を発症しやすくなり、窒素出納も悪くなる。

本発明における上記グルタミンのジペプチドを除く他のアミノ酸成分は、重度侵襲下の患者用に開発されたアミノ酸処方、即ちBCAA量を高くし、芳香族アミノ酸含量を若干低くする等の工夫を加えた処方とされ、これと上記グルタミンのジペプチドとの組成範囲は前記表に示したものとされる。特に本発明のアミノ酸輸液は下表のアミノ酸組成であるのが好ましい。

レ-アミノ酸及びジペプチド	好適組成範囲 (mg/dl)
ロイシン	1100~1500
イソロイシン	500~1500
バリン	500~1500
リジン	800~1500
スレオニン	450~700
トリプトファン	150~250

— 11 —

した点に特徴があり、これに基づいてBCAAとGlnとの合計量はTAA量の30~70w/w%、好ましくは40~60w/w%の範囲に設定されている。

尚、特に高カロリー・高蛋白を必要とする侵襲下患者へのアミノ酸輸液の適用の場合、該輸液は水分の投与量をできるだけ少なくして腎負担を軽くするため、本発明輸液はTAA濃度を8~30g/dl程度、より好ましくは10~25g/dl程度の範囲に調製されるのが望ましい。

本発明アミノ酸輸液の調製方法は公知のアミノ酸輸液と同様の方法に従うことができる。アミノ酸原料は、結晶状アミノ酸であるのが好ましく、通常遊離アミノ酸形態で用いられるが、特に遊離形態である必要はなく、慣用される各種の水溶性塩、例えばナトリウム塩、カリウム塩等の金属塩、塩酸塩、硫酸塩等の鉱物塩、酢酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩等の有機酸塩等の薬理学的に許容される

メチオニン	350~800
フェニルアラニン	600~800
アルギニン	600~2200
ヒスチジン	250~700
アラニン	0~2000
グリシン	0~1000
プロリン	0~600
セリン	0~400
システイン	0~150
チロシン	0~150
アスパラギン酸	0~150
グルタミン酸	0~200
グルタミンのジペプチド	3000~15000

また本発明のアミノ酸輸液は、重度侵襲下の患者における筋蛋白異化を抑制し体蛋白合成を促進させる作用のあるBCAA濃度を上記の通り高く設定し、同時にGlnをTAA量の10~50w/w%、好ましくは20~40w/w%の高比率で配合

— 12 —

塩の形態で用いることもできる。

本発明アミノ酸輸液は、上記の通り常法に従って所定のアミノ酸及びグルタミンのジペプチドを注射用蒸留水に混合溶解して調製できるが、他に必要に応じて安定化剤、例えば亜硫酸水素ナトリウム等やpH調節剤、例えば塩酸、酢酸、乳酸、リンゴ酸、クエン酸、水酸化ナトリウム等の各種添加剤を添加配合することもできる。

本発明輸液は上記で調製される溶液を0.45μmメンブランフィルターで濾過し、濾液をバイアルに充填し、空間部を窒素ガスで置換後、閉塞し、100~121℃程度で20~60分間程度加熱滅菌して製品とされる。

こうして得られる本発明アミノ酸輸液は、外科侵襲、敗血症、多臓器不全症、癌、熱症等の各種の中等度~重度侵襲下患者の静脈内に単独で投与することもできるが、ブドウ糖、脂肪、電解質、ビタミン等と併用してTPN投与するのが好適で

ある。投与量は、投与すべき患者の疾患状態や目的とする治療効果等に応じて適宜決定される。一般に、1人1日当り100～1500ml程度の範囲とするのが好ましい。

#### 発 明 の 効 果

本発明のアミノ酸輸液は、水溶液中で安定で且つ侵襲下の生体に容易に利用されるグルタミンのジペプチド及びBCAAを高比率で配合し、またTAA濃度を高くしたことに基づき、侵襲により機能低下しやすい腸管の機能を維持、改善し、筋蛋白異化の阻止及び体蛋白合成の促進を図り、小容量で高栄養・高カロリー輸液を可能とし、更に腎臓に過度の負担をかけなくてすむ効果を有する。

#### 実 施 例

本発明を更に詳しく説明するために、以下に実施例及び薬理試験例を挙げる。

##### 実施例 1

下記第1表に示した処方のアミノ酸及びL-ア

ラニル-L-グルタミンを注射用蒸留水に溶解し、安定化剤として亜硫酸水素ナトリウムを30mg/dl添加し、酢酸を用いてpHを7.0に調節した。その後0.45μmメンブランフィルターで濾過し、注射液をバイアルに分注し、窒素ガスで置換後、閉塞し、105℃で40分間高圧蒸気滅菌した。

第 1 表

L-アミノ酸及びジペプチド	配合量 (mg/dl)
ロイシン	1400
イソロイシン	800
バリン	800
リジン酢酸塩 (リジンとして)	1481 1050)
スレオニン	570
トリプトファン	200
メチオニン	390
フェニルアラニン	700
アルギニン	1050

— 15 —

ヒスチジン	500
グリシン	101
L-アラニル-L-グルタミン (グルタミンとして (アラニンとして	7439 5000) 3051)
TAA	15.0w/v %
Gln / TAA	33.3w/v %
(BCAA + Gln) / TAA	53.3w/v %

##### 実施例 2

実施例1と同様にして、下記第2表のアミノ酸輸液を製造した。

第 2 表

L-アミノ酸及びジペプチド	配合量 (mg/dl)
ロイシン	1400
イソロイシン	800
バリン	800
リジン酢酸塩 (リジンとして	1481 1050)

— 16 —

スレオニン	570
トリプトファン	200
メチオニン	390
フェニルアラニン	700
アルギニン	1050
ヒスチジン	500
チロシン	18
システイン	35
プロリン	174
L-アラニル-L-グルタミン グリシル-L-グルタミン (グルタミンとして (アラニンとして (グリシンとして	5722 1597 5000) 2347) 590)
TAA	15.0w/v %
Gln / TAA	33.3w/v %
(BCAA + Gln) / TAA	53.3w/v %

##### 実施例 3

— 17 —

— 18 —

実施例 1 と同様にして、下記第 3 表の amino 酸  
輸液を製造した。

第 3 表

レ-アミノ酸及びジペプチド	配合量 (mg/dl)
ロイシン	1400
イソロイシン	800
バリン	800
リジン酢酸塩	1481
(リジンとして)	1050)
スレオニン	570
トリプトファン	200
メチオニン	390
フェニルアラニン	700
アルギニン	1050
ヒスチジン	500
プロリン	376
セリン	225
システイン	100

— 19 —

スレオニン	540
トリプトファン	180
メチオニン	710
フェニルアラニン	870
アルギニン	662
ヒスチジン	296
グリシン	420
レ-アラニル-レ-グルタミン	7439
(グルタミンとして)	5005)
(アラニンとして)	3051)
TAA	15.0 w/v %
Gln / TAA	33.4 w/v %
(BCAA + Gln) / TAA	49.3 w/v %

## 実施例 5

実施例 1 と同様にして、下記第 5 表の amino 酸  
輸液を製造した。

チロシン	50
アスパラギン酸	100
レ-アラニル-レ-グルタミン	6689
(グルタミンとして)	4500)
(アラニンとして)	2743)
TAA	15.0 w/v %
Gln / TAA	30.0 w/v %
(BCAA + Gln) / TAA	50.0 w/v %

## 実施例 4

実施例 1 と同様にして、下記第 4 表の amino 酸  
輸液を製造した。

第 4 表

レ-アミノ酸及びジペプチド	配合量 (mg/dl)
ロイシン	1232
イソロイシン	550
バリン	610
リジン酢酸塩	2103
(リジンとして)	1491)

— 20 —

第 5 表

レ-アミノ酸及びジペプチド	配合量 (mg/dl)
ロイシン	1200
イソロイシン	1000
バリン	1000
リジン酢酸塩	1975
(リジンとして)	1400)
スレオニン	600
トリプトファン	160
メチオニン	500
フェニルアラニン	800
アルギニン	1500
ヒスチジン	700
グリシン	690
プロリン	550
セリン	200
システイン	100
チロシン	50

21 —

—150—

— 22 —

アスパラギン酸	150
L-グルタミン-L-アラニン	6400
(グルタミンとして)	4306)
(アラニンとして)	2625)
TAA	17.0 w/v %
Gln / TAA	25.3 w/v %
(BCAA + Gln) / TAA	44.2 w/v %

## 実施例 6

実施例 1 と同様にして、下記第 6 表のミノ酸  
輸液を製造した。

第 6 表

L-アミノ酸及びジペプチド	配合量 (mg/dl)
ロイシン	1300
イソロイシン	1000
バリン	1000
リジン酢酸塩	1975
(リジンとして)	1400)
スレオニン	600

— 23 —

トリプトファン	200
メチオニン	500
フェニルアラニン	800
アルギニン	1500
ヒスチジン	700
プロリン	400
セリン	200
システイン	100
チロシン	50
アスパラギン酸	150
L-グルタミン-L-アラニン	6600
L-グルタミン-グリシン	2500
(グルタミンとして)	6239)
(アラニンとして)	2707)
(グリシンとして)	924)
TAA	19.0 w/v %
Gln / TAA	32.8 w/v %
(BCAA + Gln) / TAA	50.2 w/v %

— 24 —

## 実施例 7

実施例 1 と同様にして、下記第 7 表のミノ酸  
輸液を製造した。

第 7 表

L-アミノ酸及びジペプチド	配合量 (mg/dl)
ロイシン	1400
イソロイシン	1200
バリン	1200
リジン酢酸塩	1692
(リジンとして)	1200)
スレオニン	500
トリプトファン	250
メチオニン	400
フェニルアラニン	500
アルギニン	1200
ヒスチジン	600
プロリン	600
セリン	200

システイン	100
チロシン	50
アスパラギン酸	150
L-アラニン-L-グルタミン	7450
グリシン-L-グルタミン	3000
(グルタミンとして)	7171)
(アラニンとして)	3055)
(グリシンとして)	1108)
TAA	20.0 w/v %
Gln / TAA	35.9 w/v %
(BCAA + Gln) / TAA	54.9 w/v %

## 薬理試験例

体重 250 g のウイスター系雄性ラットに 5 %  
カゼイン食 1 日 5 g のみを与えて 7 日間飼育し、  
低栄養とした。そののち手術侵襲としてネンプタ  
ール麻酔下に剣状突起下を腹部正中線に沿って約  
4 cm 切開し、腸を腹腔外に出して 30 分間空気曝  
露した。この 30 分間に頸静脈より上大静脈起始

— 25 —

— 151 —

— 26 —

部にシリコンラバーカテーテルを挿入留置し、無拘束下に連続輸注できるようにした。腸管を腹腔内にもどし、腹壁を縫い合わせた後、ただちに実施例3で得た本発明アミノ酸輸液を2.0 g N/kg/day の速度で7日間TPN投与した(本発明群)。

また、比較輸液として「アミバレン」(大塚製薬(株)製)を上記本発明群と等N量(2.0 g/kg/day)投与した群(比較群)を設けた。

尚、同時にグルコース、脂肪を両群共、等量投与し、総投与カロリーをほぼ286 kcal/kg/dayとした。また、電解質及びビタミン類も必要量を投与した。

上記TPNの開始7日後に、各群ラット(各12匹)の体重及び空腸湿重量を測定した。尿量は、実験期間中毎日測定し、総窒素排泄量を微量窒素分析装置(TN-7型、柳本製作所製)で測定し、窒素出納(投与窒素量-尿中排泄窒素量)

を算出した。更に空腸粘膜の重量、蛋白量、DNA及びSucrase活性を測定した。

測定方法は、下記の文献に記載の方法に準じた。

蛋白量: Lowry et al, J. Biol. Chem., 193, 265 (1951)

DNA: Schneider, J. Biol. Chem., 164, 747 (1946)

Sucrase 活性: Dahlqvist, Anal. Biochem., 22, 99 (1968)

測定結果を下記第8表に示す。

— 27 —

第 8 表

測定項目	比較群	本発明群	有意差検定
体重増加率 (%)	+8.1 ± 2.6	+14.6 ± 3.2	**
窒素出納 (mg/day)	+128 ± 23	+183 ± 29	**
空腸湿重量 (mg/cm)	24.5 ± 3.2	38.4 ± 3.9	**
空腸粘膜の重量 (mg/cm)	17.4 ± 0.8	21.3 ± 1.1	**
空腸粘膜の蛋白量 (mg/cm)	1.8 ± 0.3	3.3 ± 0.3	**
空腸粘膜のDNA (μg/cm)	245 ± 11	288 ± 19	**
空腸粘膜の Sucrase (nmol/cm/min)	112 ± 28	178 ± 31	**

mean ± SD, n=12, \*\*: p<0.01

第8表より、本発明群では比較群に比べて体重増加率、窒素出納が有意に良好であり、優れた栄養効果を有することが明らかである。

また本発明群では、空腸湿重量、空腸粘膜の重量、蛋白量、DNA量が比較群に比べて有意に高

— 28 —

値であり、このことから小腸の萎縮が本発明アミノ酸輸液によるL-アラニル-L-グルタミンの投与により抑制されていることが判る。

更に本発明群におけるSucrase活性が高いことは、本発明輸液によるL-アラニル-L-グルタミン投与により、小腸機能が改善されたことを明らかにしている。

(以上)

代理人 弁理士 三 枝 英 二

